

-大学院歯学独立研究科-
第 121 回 大学院 研究科 発表会 プログラム

大学院学生等が、これまでの研究成果を発表します。
どなたでも聴講できますので、多数の参加をお待ちしております (聴講申込不要)

場 所：実習館 2 階 総合歯科医学研究所セミナー室

日 時：2024 年 11 月 27 日 (水) 17 時 25 分 開会

—2024 年 11 月 27 日 (水) —

No.	発表区分・予定時間	演題名・発表者	審査委員
	17:25	開会挨拶 平岡研究科長	
1	[大学院] 17:30~18:00 司会:村上 教授	「Plasma Rich Growth Factors(PRGF®)と白血球を含む Platelet-Rich Plasma(L-PRP) の培養歯肉上皮細胞における細胞増殖および創面閉鎖の比較検討」 渡邊 遊理 硬組織疾患制御再建学講座 硬組織疾患病態解析学	主査:芳澤教授 副査:吉成教授 :小林教授

発表内容の要旨(課程博士)
Abstract of Presented Research (For the Doctoral Course)

学籍番号 Student ID No. (ふりがな)	ID#G 2111	入学年 Entrance Year	2021 年 Year
氏名 Name in Full	わたなべ ゆうり 渡邊 遊理		
専攻分野 Major Field	硬組織疾患病態解析学		
主指導教員 Chief Academic Advisor	村上 聡		
発表会区分 Type of Meeting	中間発表会 ・ 大学院研究科発表会 ・ 松本歯科大学学会 Midterm Meeting / Graduate school research meeting presentation / The Matsumoto Dental University Society		
演題名 / Title of Presentation			
Plasma Rich in Growth Factors (PRGF®) と白血球を含む Platelet-Rich Plasma (L-PRP) の培養歯肉上皮細胞における細胞増殖および創面閉鎖の比較検討			
発表要旨 / Abstract			
<p>【背景】多血小板血漿 (Platelet-Rich Plasma ; PRP) とは自己血を遠心分離して得られる血小板を豊富に含んだ血漿の一部である。PRP は組織欠損部に投与することで、血小板由来の成長因子が高濃度で局所に作用し、組織再生や創傷治癒を促進させることから、褥瘡や熱傷の治療などに用いられている。PRP は Marx らの報告によると遠心分離によって血小板濃度を高めることに重点を置いており、白血球成分の混入を伴う (R E Marx, 1998)。現在に至るまで術者によって様々な PRP 作成法が開発されてきたが、画一化はなされていない。</p> <p>近年、Anitua らにより PRP 作成のための画一化された遠心分離方法 (PRGF System®) が開発された。これにより赤血球、白血球および血小板を明確に相分離することが可能となった。このシステムにより作成された多血小板血漿は PRGF (Plasma Rich in Growth Factors) と呼ばれ、高濃度の血小板濃度だけでなく、低濃度の白血球濃度を獲得することが可能といわれている (E Anitua, 2012)。</p> <p>PRGF は日本でも 2022 年に薬事承認され、創傷治癒促進の観点から歯槽骨を含む歯周組織の再生に盛んに応用されるようになってきている。近年、PRGF が骨芽細胞や歯肉線維芽細胞などの間葉系細胞の細胞増殖を促進し、創傷治癒を促進させる可能性があることが培養実験にて明らかとなった (Anitua, 2022)。しかしながら、PRGF の歯肉上皮細胞に対する作用、特に白血球を多く含む PRP (L-PRP) との違いについては不明な点も多い。</p> <p>今回我々は L-PRP に含まれる白血球由来インターロイキンの細胞増殖抑制能に着目し、PRGF が L-PRP と比べて歯肉上皮細胞の増殖と創傷閉鎖を促進し、創傷治癒を促進するとの仮説を立てた。この仮説をもとに細胞培養実験にて歯肉上皮細胞の増殖と創傷治癒に及ぼす影響を PRGF と L-PRP を比較しながら明らかにする (松本歯科大学倫理審査認証：許可番号 第 0363 号)。</p> <p>【材料と方法】PRGF と L-PRP はドナー3人の血液から作成した。ポジティブコントロールとして成長因子を含むウシ脳下垂体抽出物 (BPE) 含有の完全培地を使用し、上皮細胞の形質を維持した状態で細胞増殖を促進させた。また、ネガティブコントロールとして BPE を除いた培地を用いた。セルブロック法と血球計算盤を使用して PRGF と L-PRP に含まれる血小板の有無と白血球濃度を評価した。PRGF および L-PRP 下で歯肉上皮細胞を培養し、WST-1 による歯肉上皮細胞の増殖を計測した。セルカルチャーインサートを用いて、細胞の増殖能だけでなく走化能も反映する創面閉鎖モデルを作成後、創面閉鎖率を計測した。また、細胞増殖抑制に係る TNF-α、細胞接着に関与する Integrin β 4 の mRNA 発現を定量的に比較した。</p> <p>【結果と考察】PRGF では含まれる白血球濃度は L-PRP よりも低い傾向を示し、細胞増殖におい</p>			

て PRGF は L-PRP よりも 1, 2 日目には有意に高値であった。創面閉鎖率は PRGF と L-PRP ともに対照群と有意な差はみられなかった。定量的 RT-PCR に結果でも PRGF と L-PRP は対照群に比し TNF- α および Integrin β 4 とともに mRNA 発現量に有意な差は示さなかった。白血球の乏しい PRGF が白血球を多く含む L-PRP と比較して in vitro での歯肉上皮細胞の 1~2 日目の増殖を促進したことは、白血球由来の IL-1 β が PRGF では L-PRP と比べて優位に少ないことが報告されており、PRGF では IL-1 β により誘導されるアポトーシスや細胞周期抑制が生じないと考えられた。また、PRGF と L-PRP ともに歯肉上皮細胞の TNF- α と Integrin β 4 の mRNA 発現量には差がみられなかったことから、歯肉上皮細胞による創の閉鎖に必要な細胞の伸展、細胞骨格の変化に係る遺伝子発現の変動に大きく関与する可能性は低いと考えられた。

【結論】 PRGF は L-PRP と比べて初期の歯肉上皮組織の増殖をより促すことで、歯周組織の創傷治癒を促進する可能性が示唆された。